

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 62-201901

(43)Date of publication of application : 05.09.1987

(51)Int.Cl.

C08B 37/00
C12P 19/04
// A23P 1/00
A23P 1/02
A61K 31/715
A61K 31/715
A61K 47/00
(C12P 19/04
C12R 1:645)

(21)Application number : 61-044189

(71)Applicant : HAYASHIBARA BIOCHEM LAB INC

(22)Date of filing : 03.03.1986

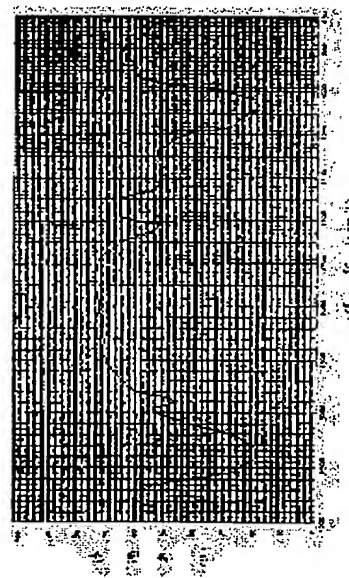
(72)Inventor : MISAKI AKIRA
SONE YOSHIKI
MIHASHI MASAKAZU
MIYAKE TOSHIO

(54) BETA-D-GLUCAN AND ITS PRODUCTION AND USE

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a β -D-glucan useful as an antitumoral agent, a paste for food or the like advantageously in good productivity, by cultivating microorganisms of the genus *Aureobasidium* and collecting the product from the culture.

CONSTITUTION: Microorganism of the genus *Aureobasidium* (e.g., *Aureobasidium pullulans*, IFO 4464) are cultivated, and the product is collected to obtain the purpose β -D-glucan (aureobasilan). This compound shows a composition of C≈44.1%, H=6.18%, N<0.1% and ash <0.01% in an elementary analysis, a MW (gel permeation chromatography) of 100,000W500,000 and a m.p. of about 230° C (decomposed). It has a specific rotation $[\alpha]_{25D}$ of $\pm 4^\circ$, and an IR absorption spectrum shown in the figure, is readily soluble in 0.5N NaOH and dimethyl sulfoxide, soluble in water and insoluble in methanol and acetone and is positive to the anthrone-sulfuric acid reaction and the phenol-sulfuric acid reaction and regative to the carbazole reaction, etc.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

- [Date of registration]

Laid open to public as JP-A-62-201901 on September 5, 1987

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許出願公告番号

特公平6-92441

(24)(44)公告日 平成6年(1994)11月16日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 8 B 37/00		Z 7433-4C		
A 6 1 K 31/715	ABA			
	ADU	8314-4C		
47/36		A 7433-4C		
		B 7433-4C		

発明の数3(全 17 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願昭61-44189	(71)出願人	999999999 株式会社林原生物化学研究所 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号
(22)出願日	昭和61年(1986)3月3日	(72)発明者	三崎 旭 兵庫県神戸市東灘区深江南町1丁目1番58-355号
(65)公開番号	特開昭62-201901	(72)発明者	曾根 良昭 大阪府泉佐野市鶴原219番の8
(43)公開日	昭和62年(1987)9月5日	(72)発明者	三橋 正和 岡山県岡山市小橋町1丁目4番11号
		(72)発明者	三宅 俊雄 岡山県岡山市奥田1丁目7番10-403号
		審査官	弘実 謙二

(54)【発明の名称】 β -D-グルカンとその製造方法及び用途

<p>1</p> <p>【特許請求の範囲】</p> <p>【請求項1】(1)理化学的性質が、</p> <p>a 元素分析</p> <p>C≒44.1% H≒6.18%</p> <p>N<0.1% 灰分<0.01%</p> <p>b 分子量(ゲル濾過法)</p> <p>100,000乃至500,000</p> <p>c 融点</p> <p>約230°Cで分解</p> <p>d 比旋光度</p> <p>▲[α]²⁵_D ▼±4°</p> <p>(l=1, c=1.0% 1N-NaOH)</p> <p>e 赤外線吸収スペクトル(KBr錠剤法)</p> <p>図面に示す</p> <p>f 溶解性</p>	<p>2</p> <p>0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶</p> <p>水に可溶</p> <p>メタノール、エタノール、アセトン、クロロホルムに不溶</p> <p>g 呈色反応</p> <p>アントロン-硫酸反応 陽性</p> <p>フェノール-硫酸反応 陽性</p> <p>カルバゾール反応 陰性</p> <p>ニンヒドリン反応 陰性</p> <p>10 ヨード反応 陰性</p> <p>h 塩基性、酸性、中性の区別</p> <p>凍結乾燥品の0.1%水溶液は中性乃至微酸性</p> <p>i 物性</p> <p>粉末品は白色</p> <p>を示すβ-D-グルカン(オーレオバシラン)。</p>
--	--

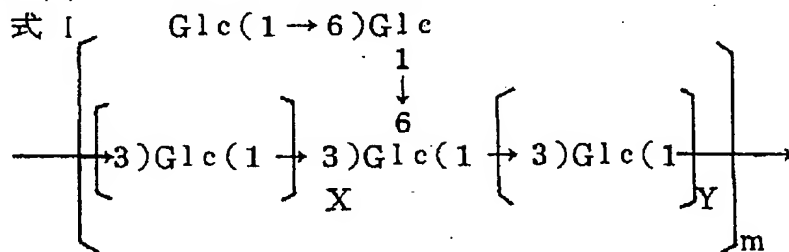
3

【請求項2】β-D-グルカンが、メチル化分析法により、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース11乃至15モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース0.8乃至1.2モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース0.6乃至1.0モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース0.8乃至1.2モルのモル比を示すβ-D-グルカン（オーレオバシランA）であるか、または、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコ

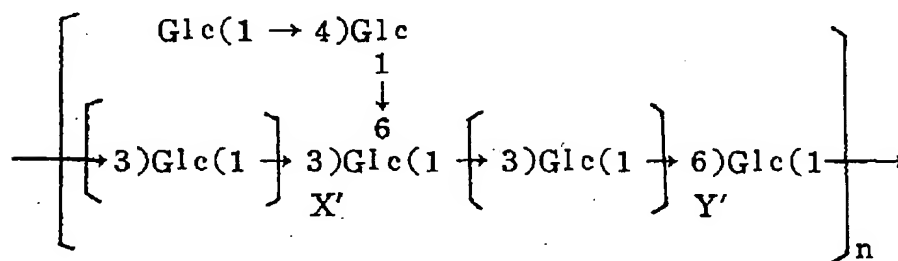
4

*ース3乃至5モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース0.3乃至0.5モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース0.2乃至0.4モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース0.9乃至1.2モルのモル比を示すβ-D-グルカン（オーレオバシランB）であることを特徴とする特許請求の範囲第（1）項記載のβ-D-グルカン（オーレオバシラン）。

【請求項3】β-D-グルカンが、繰り返し単位として、



および式 II

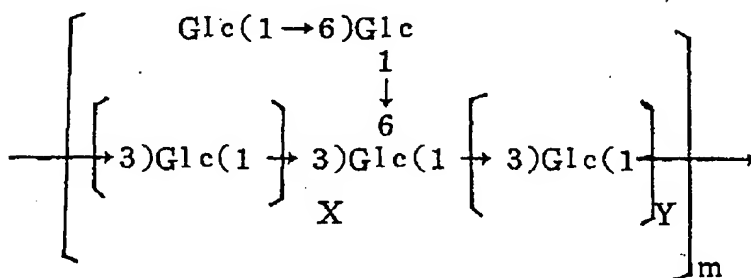


（但し、式中、Glcはβ-結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X' およびY' は、X+YまたはX'+Y' が11乃至15になる1以上の整数を示し、m※

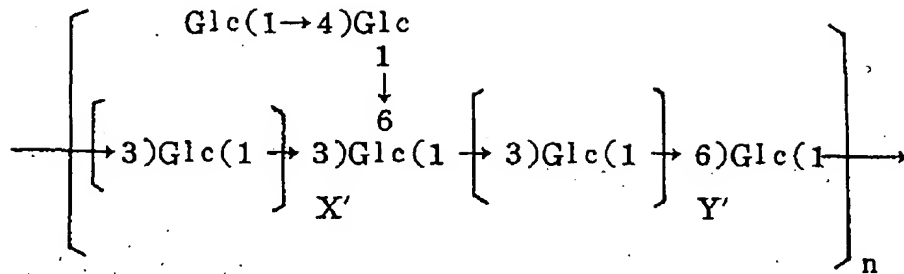
※およびnは、その比が1:3乃至5を示す。）

30 で表されるβ-D-グルカン（オーレオバシランA）であるか、または、

式 I



5
および式Ⅱ



(但し、式中、Glcはβ結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X' およびY' は、X+YまたはX'+Y' が3乃至5になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表されるβ-D-グルカン(オーレオバシランB)であることを特徴とする特許請求の範囲第(1)項または第(2)項記載のβ-D-グルカン。

【請求項4】オーレオバシディウム属に属する微生物を培養し、その培養物から、
理化学的性質が、

a 元素分析

C≒44.1% H≒6.18%

N<0.1% 灰分<0.01%

b 分子量(ゲル濾過法)

100,000乃至500,000

c 融点

約230℃で分解

d 比旋光度

▲[α]²⁵_D。▼±4°

(l=1, c=1.0% 1N-NaOH)

e 赤外線吸収スペクトル(KBr錠剤法)

図面に示す

f 溶解性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶

水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、クロロホルムに
不溶

g 呈色反応

アントロン-硫酸反応

* フェノール-硫酸反応

カルバゾール反応

ニンヒドリン反応

ヨード反応

陽性

陰性

陰性

陰性

h 塩基性、酸性、中性の区別

凍結乾燥品の0.1%水溶液は中性乃至微酸性

i 物性

粉末品は白色

20 を示すβ-D-グルカンを採取することを特徴とするβ-D-グルカン(オーレオバシラン)の製造方法。

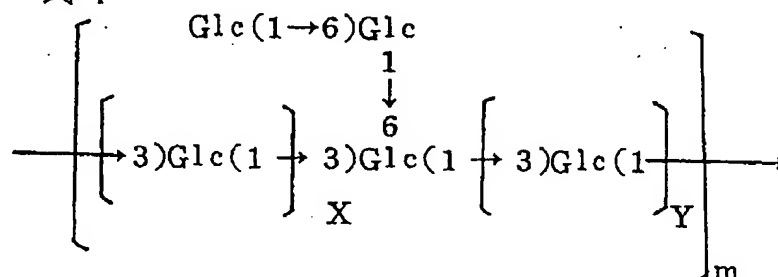
【請求項5】β-D-グルカンが、メチル化分析法により、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース11乃至15モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース0.8乃至1.2モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース0.6乃至1.0モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース0.8乃至1.2モルのモル比を示すβ-D-グルカン(オーレオバシランA)であるか、または

30 は、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース3乃至5モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース0.3乃至0.5モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース0.2乃至0.4モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース0.9乃至1.2モルのモル比を示すβ-D-グルカン(オーレオバシランB)であることを特徴とする特許請求の範囲第(4)項記載の製造方法。

【請求項6】β-D-グルカンが、繰り返し単位として、

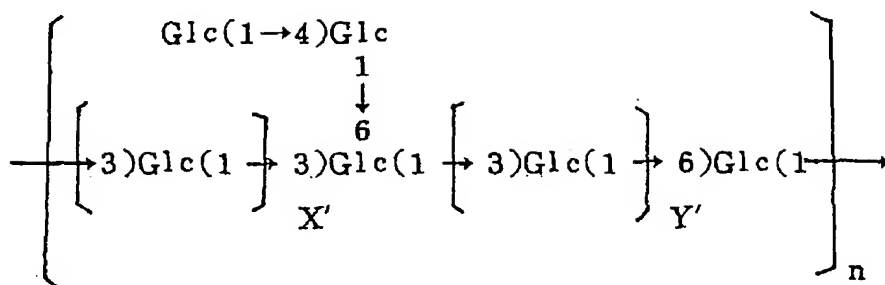
陽性*40

式Ⅰ



7
および式Ⅱ

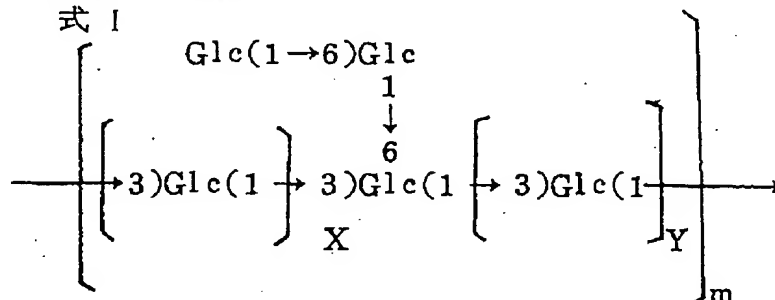
8



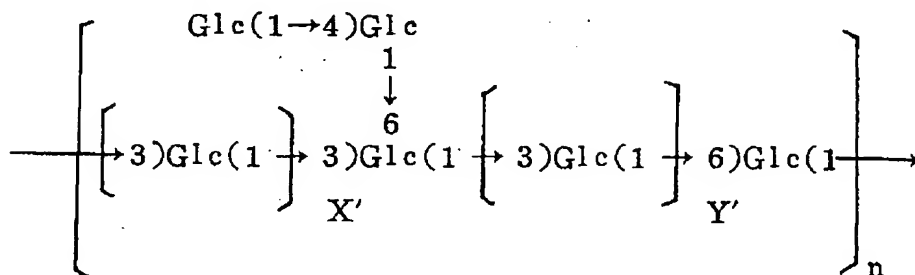
(但し、式中、Glcはβ-結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X' およびY' は、X+YまたはX'+Y' が11乃至15になる1以上の整数を示し、m*

* およびnは、その比が1:3乃至5を示す。)で表されるβ-D-グルカン(オーレオバシランA)であるか、または、

式Ⅰ



および式Ⅱ



(但し、式中、Glcはβ結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X' およびY' は、X+YまたはX'+Y' が3乃至5になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表されるβ-D-グルカン(オーレオバシランB)であることを特徴とする特許請求の範囲第(4)項または第(5)項記載の製造方法。

【請求項7】β-D-グルカン(オーレオバシラン)を微生物菌体または該菌体細胞壁からアルカリ性水溶液で溶出採取することを特許請求の範囲第(4)項、第(5)項または第(6)項記載の製造方法。

【請求項8】β-D-グルカン(オーレオバシラン)とともにブルランを採取することを特徴とする特許請求の範囲第(4)項、第(5)項または第(6)項記載の製造方法。

【請求項9】理化学的性質が、

a 元素分析

C≒44.1% H≒6.18%

N<0.1% 灰分<0.01%

b 分子量(ゲル濾過法)

100,000乃至500,000

c 融点

約230°Cで分解

d 比旋光度

▲[α]_D²⁵、▼±4°

(l=1、c=1.0% 1N-NaOH)

e 赤外線吸収スペクトル(KBr錠剤法)

図面に示す

f 溶解性

50 0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶

水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、クロロホルムに
不溶

g 呈色反応

アントロン-硫酸反応

陽性

フェノール-硫酸反応

陽性

カルバゾール反応

陰性

ニンヒドリン反応

陰性

ヨード反応

陰性

h 塩基性、酸性、中性の区別

凍結乾燥品の0.1%水溶液は中性乃至微酸性

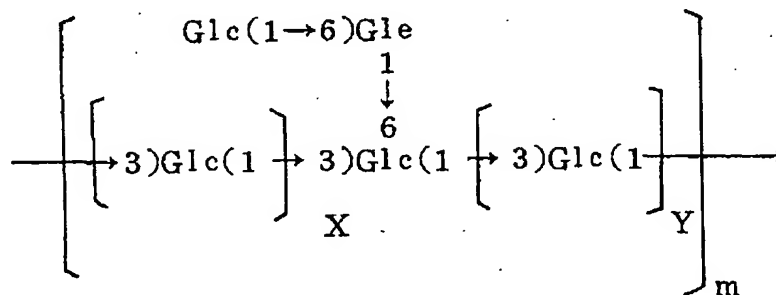
i 物性

粉末品は白色

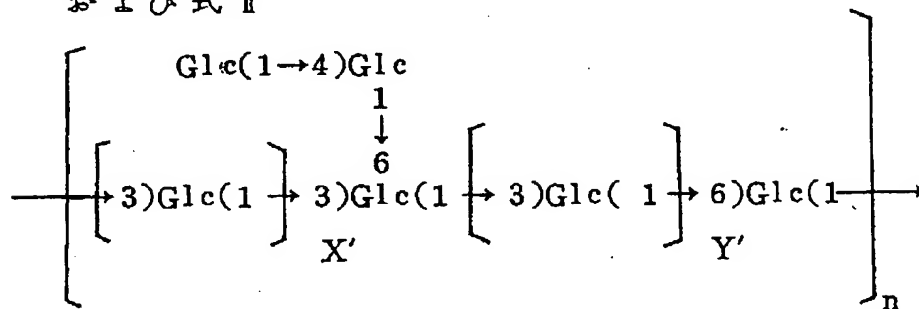
を示すβ-D-グルカン（オーレオバシラン）、または
該β-D-グルカン（オーレオバシラン）を過沃素酸若
しくはその水溶性塩で酸化処理し、次いで、還元処理し
て得られるポリオール型β-D-グルカン（ポリオール
型オーレオバシラン）を含有せしめたことを特徴とする
組成物。

*

式 I



および式 II



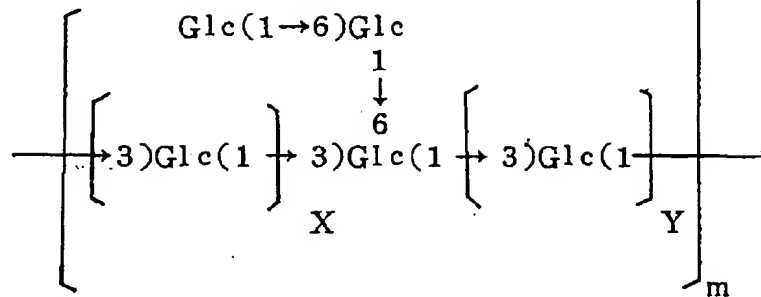
（但し、式中、Glcはβ-結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X' およびY' は、X+YまたはX'+Y' が11乃至15になる1以上の整数を示し、m

*【請求項10】β-D-グルカンが、メチル化分析法により、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース11乃至15モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース0.8乃至1.2モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース0.6乃至1.0モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース0.8乃至1.2モルのモル比を示すβ-D-グルカン（オーレオバシランA）であるか、または、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース3乃至5モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース0.3乃至0.5モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース0.2乃至0.4モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース0.9乃至1.2モルのモル比を示すβ-D-グルカン（オーレオバシランB）であることを特徴とする特許請求の範囲第（9）項記載の組成物。

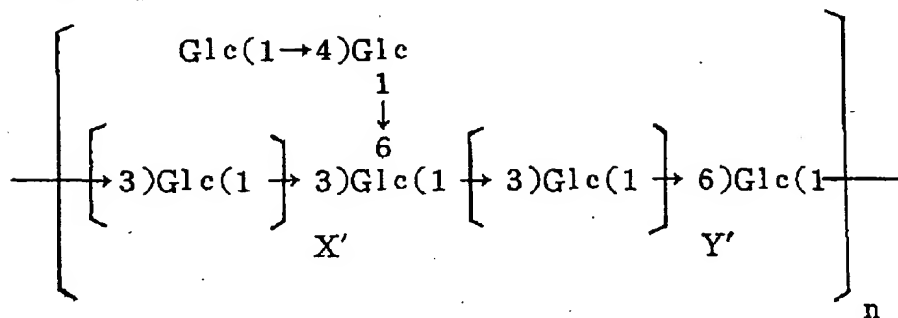
【請求項11】β-D-グルカンが、繰返し単位として、

およびnは、その比が1:3乃至5を示す。）
で表されるβ-D-グルカン（オーレオバシランA）であるか、または、

式 I



および式 II



(但し、式中、Glcはβ結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X' およびY' は、X+YまたはX'+Y' が3乃至5になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表されるβ-D-グルカン(オーレオバシランB)であることを特徴とする特許請求の範囲第(9)項または第(10)項記載の組成物。

【請求項12】組成物が成形物であることを特徴とする特許請求の範囲第(9)項、第(10)項または第(11)項の組成物。

【請求項13】組成物が、飲食物であることを特徴とする特許請求の範囲第(9)項、第(10)項、第(11)項または第(12)項の組成物。

【請求項14】組成物が、抗腫瘍剤であることを特徴とする特許請求の範囲第(9)項、第(10)項、第(11)項または第(12)項記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

(産業上の利用分野)

本発明は、化粧品、化学工業、食品工業、医薬品工業など幅広い用途を持つ新規なβ-D-グルカン(オーレオバシラン)とその製造方法及び用途に関するものである。

更に詳細には、理化学的性質

a 元素分析

C≒44.1% H≒6.18%

N<0.1% 灰分<0.01%

b 分子量(ゲル濾過法)

100,000乃至500,000

c 融点

約230°Cで分解

d 比旋光度

▲[α]²⁵_D ±4°

(l=1、c=1.0% 1N-NaOH)

e 赤外線吸収スペクトル(KBr錠剤法)

図面に示す

f 溶解性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶

水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、クロロホルムに不溶

g 呈色反応

アントロン-硫酸反応 陽性

フェノール-硫酸反応 陽性

カルバゾール反応 陰性

ニンヒドリン反応 陰性

ヨード反応 陰性

h 塩基性、酸性、中性の区別

凍結乾燥品の0.1%水溶液は中性乃至微酸性

i 物性

粉末品は白色

を示す新規なβ-D-グルカン(オーレオバシラン)とその製造方法及び用途に関する。

(従来の技術)

β-D-グルカンのある種のものは、血糖低下作用、コレステロール低下作用、細胞性免疫機構を介しての抗腫瘍作用などの生理作用を示すことが知られており、医薬

若しくはその原料として注目されている。

なかでも、悪性腫瘍に対して抗腫瘍活性を示し、抗腫瘍剤として注目されている β -D-グルカンとしては、例えば、H・Saito et al., Aqr. Biol. Chem., Vol. 32, 1261-1269 (1968) で報告されているパキマン (Pachyma n), T. Sasaki et al., Carbohydrate Res., Vol. 47, 99-104 (1976) で報告されているレンチナン (Lentina n), K. Tabata et al., Carbohydrate Res., Vol. 89, 121-135 (1981) 報告されているシゾフィラン (Shizophyl lan), A. Misaki et al., Carbohydrate Res., Vol. 92, 115-129 (1981) で報告されている β -D-グルカンなどがある。

しかしながら、これら β -D-グルカンは、担子菌の子実体を原料とすることから、製造に長期間を要するだけでなく、その生産量も不十分である。

(本発明の解決しようとする問題点)

本発明者等は、用途が医薬品工業のみならず、化粧品、食品工業、化学工業など、その他多くの工業分野にも利用できる新しい β -D-グルカンの開発を目的に鋭意研究した。

その結果、オーレオバシディウム (Aureobasidium) 属に属する微生物を培養して、その培養物中に、理化学的性質が、

a 元素分析

C \approx 44.1% H \approx 6.18%

N $<$ 0.1% 灰分 $<$ 0.01%

b 分子量 (ゲル濾過法)

100,000乃至500,000

c 融点

約230°Cで分解

d 比旋光度

$\Delta[\alpha]^{25}_D \pm 4^\circ$

(l = 1, c = 1.0% 1N-NaOH)

e 赤外線吸収スペクトル (KBr錠剤法)

図面に示す

f 溶解性

0.5N-NaOH, ジメチルスルホキシドに易溶

水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、クロロホルムに

不溶

g 呈色反応

アントロン-硫酸反応 陽性

フェノール-硫酸反応 陽性

カルバゾール反応 陰性

ニンヒドリン反応 陰性

ヨード反応 陰性

h 塩基性、酸性、中性の区別

凍結乾燥品の0.1%水溶液は中性乃至微酸性

i 物性

粉末品は白色

を示す β -D-グルカン、とりわけ、 β -D-グルカンが、メチル化分析法により、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース11乃至15モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース0.8乃至1.2モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース0.6乃至1.0モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース0.8乃至1.2モルのモル比を示すか、または、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース3乃至5モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース0.3乃至0.5モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース0.2乃至0.4モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース0.9乃至1.2モルのモル比を示す新規構造の β -D-グルカンを見いだした。

この β -D-グルカンは、R.G. Brown et al., Acta Chem. Scand., Vol. 21, 2379-2382 (1967) で報告されているオーレオバシディウム ブルランスからの多糖類とも明らかに異っていることが判明した。

20 本発明者等は、この新規な β -D-グルカンをオーレオバシラン (Aureobasillan) と命名した。

このオーレオバシランは、次のような理化学的性質を有していることから、新規な β -D-グルカンであることが認められる。

a 元素分析

実測値 C \approx 44.1% H \approx 6.18%

N $<$ 0.1% 灰分 $<$ 0.01%

計算値 C=44.4% H=6.17%

b 分子量 (ゲル濾過法)

30 100,000乃至500,000

c 融点

約230°Cで分解

d 比旋光度

$\Delta[\alpha]^{25}_D \pm 4^\circ$

(l = 1, c = 1.0% 1N-NaOH)

e 赤外線吸収スペクトル (KBr錠剤法)

図面に示す

f 溶解性

0.5N-NaOH, ジメチルスルホキシドに易溶

40 水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、クロロホルムに

不溶

g 呈色反応

アントロン-硫酸反応 陽性

フェノール-硫酸反応 陽性

カルバゾール反応 陰性

ニンヒドリン反応 陰性

ヨード反応 陰性

h 塩基性、酸性、中性の区別

50 凍結乾燥品の0.1%水溶液は中性乃至微酸性

i 物性

粉末品は白色

j 構成糖

無機酸または有機酸、例えば72%硫酸に室温で5分間放置後、7倍に水で希釈し100°Cで4乃至5時間保つか、または、2M-トリクロ酢酸に100°Cで6時間加熱するなどの方法により完全加水分解して得られる糖は、ペーパークロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、およびグルコースオキシダーゼ・パーオキシダーゼ法による分析結果からD-グルコースであることが判明した。

k 結合様式

(i) 比旋光度が $\Delta[\alpha]^{25}_D \pm 4^\circ$ と低い値を示すこと、および赤外線吸収スペクトルが 890cm^{-1} 附近に吸収を示すことから、オーレオバシランを構成するすべての、若しくはほとんどのグルコース残基は、 β -結合をしている。

(ii) メチル化分析法、すなわち、オーレオバシランをジメチルスルホキシドに溶解後、メチルスルフィニルカルバニオンおよび沃化メチルを用いる箱守法でメチル誘導体に導き、これを酸で加水分解し、更にメチル化糖をアルディトール アセテートに誘導し、ガスクロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー・質量分析により分析すると、その生成物は次のモル比を有する。

比較的低分子量であって、DEAE-セルロースに非吸着性のオーレオバシラン（オーレオバシランAと命名する。）は、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース11乃至15モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース0.8乃至1.2モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース0.6乃至1.0モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース0.8乃至1.2モルを示す。

* O-メチル-D-グルコース0.8乃至1.2モルを示す。

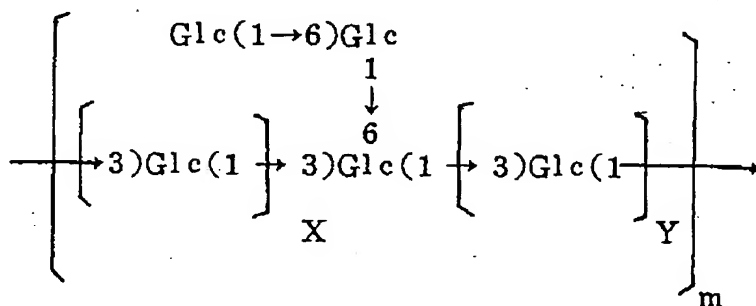
比較的高分子量であって、DEAE-セルロースに吸着性のオーレオバシラン（オーレオバシランBと命名する。）は、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース3乃至5モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース0.3乃至0.5モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース0.2乃至0.4モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース0.9乃至1.2モルのモル比を示す。

(iii) 緩和スミス分解で得られた水不溶性の高分子画分をメチル化後、酸加水分解すると、大量の2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコースと少量の2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコースを生成する。

また、オーレオバシランにエンド型 β -1,3グルカナーゼを作用させると、その生成物には、主にラミナリビオース、少量のグルコースおよび更に少量の β -6-O- β -グルコシルラミナリビオースを含有する。これらの事実は、 β -1,6結合のかなりの部分が β -1,3結合を繰り返している主鎖中に β -1,3結合と隣接した形で組み込まれていることを示すものである。

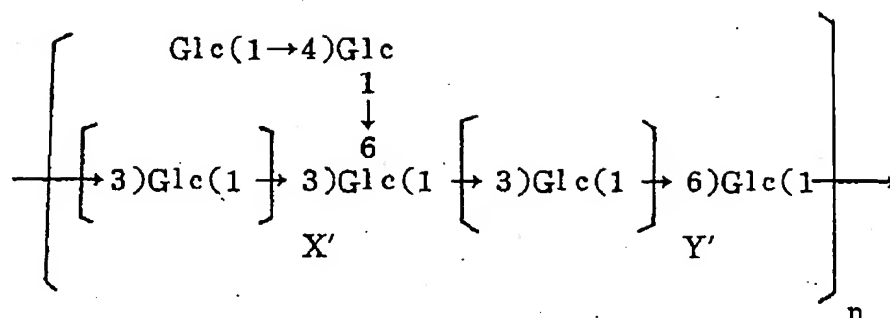
以上の事実から、本発明のオーレオバシランは、従来から知られている β -D-グルカンとは全く異なり、 β -1,3結合を繰り返している主鎖中に一定の割合で β -1,6結合を有していること、および主鎖を形成するグルコース残基から一定の割合でそのグルコース残基のC6位から短かい側鎖を分岐しており、更に、その側鎖には β -1,6結合以外にかなりの量の β -1,4結合を有している β -D-グルカンである。上述の結果を総合的に判断すると、オーレオバシランの構造式は、繰り返し単位が、

式 1



17
および式Ⅱ

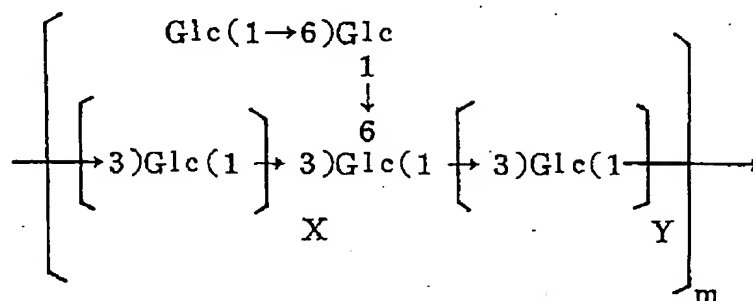
18



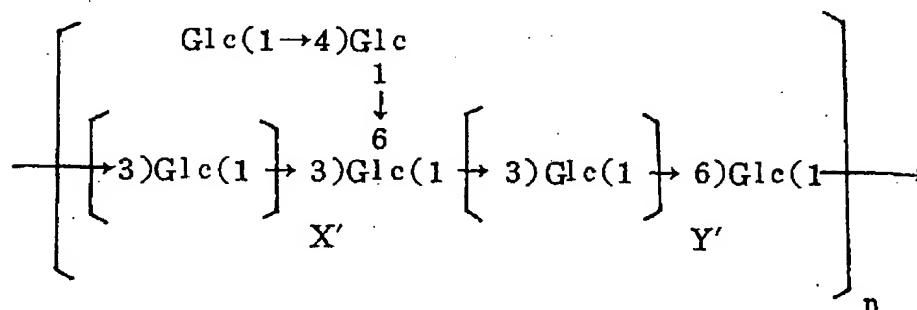
(但し、式中、Glcはβ-結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X' およびY' は、X+YまたはX' + Y' が11乃至15になる1以上の整数を示し、m*

*およびnは、その比が1:3乃至5を示す。) で表されるβ-D-グルカン(オーレオバシランA)であるか、または、

式Ⅰ



および式Ⅱ



(但し、式中、Glcはβ-結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X' およびY' は、X+YまたはX' + Y' が3乃至5になる1以上の整数を示し、m およびnは、その比が1:3乃至5を示す。) で表されるβ-D-グルカン(オーレオバシランB)であることが判明した。

本発明のオーレオバシランを製造する方法としては、例えば、オーレオバシディウム プルランス (*Aureobasidium pullulans*) IF04464、IF04875、IF06353、IF06401、IF06725、オーレオバシディウム マンソーニ (*Aureobasidium mansonii*) IF09233などを、炭素源、窒素源、無機塩などの適当な栄養源を含有する固体培地、または

液体培地に植菌して静置または通気攪拌などの培養方法で培養し、培養物中にオーレオバシランを産生せしめ、これを分離し採取すればよい。

また、培養物中に、オーレオバシランとともにプルランを生成蓄積せしめ、両者を分離し採取することもきわめて有利に実施できる。

培地の栄養源としては、本発明のオーレオバシランを産生し得るものであればよく、炭素源としては、グリセロール、キシロース、グルコース、ソルビトール、フラクトース、マルトース、イソマルトース、マルチトール、シュクロース、ラクトース、セロビオース、マルトリオース、マルトテトラオース、DE10乃至70の澱粉部分分

解物、蔗糖蜜などが適している。オーレオバシランとともにブルランを産生させる場合には、これら糖類を約3乃至20w/v%含有せしめた液体培地を用いて好気的条件下で培養するのが好適である。窒素源としては、硝酸塩、アンモニウム塩、尿素などの合成化合物やポリペプトン、酵母エキス、麦芽エキス、コーンステーパーリカー、脱脂大豆抽出物、ペプタイド、アミノ酸などの天然有機物などが適宜利用できる。また、無機塩としては、リン酸塩、カリウム塩、硫酸塩、マグネシウム塩、必要に応じて鉄塩、マンガン塩、カルシウム塩などが適宜選択できる。

培養時のpH、温度は、該微生物が生育しオーレオバシランを産生しうる条件であればよく、通常、pH2.0乃至9.0、温度15乃至35°Cが選ばれる。また、培養期間は、オーレオバシランの産生量が最大になる期間が選ばれ、通常、液体培地で通気攪拌する場合1乃至10日間である。培養物からオーレオバシランを分離採取する方法としては、例えば、前記液体培養物を濾過または遠心分離などの方法で微生物菌体を分離し、この菌体から採取する。この際、ブルランを採取する場合には、菌体を分離した

濾液または上清から常法に従って採取すればよい。菌体からオーレオバシランを採取する方法は、菌体またはその破砕物から得られる細胞壁に、例えば、熱水、希酸、希アルカリなどの溶出剤、望ましくは、pH7.0を越えるアルカリ性水溶液、とりわけ0.01乃至4.0Nの水酸化カリウム、水酸化ナトリウム、水酸化マグネシウム、水酸化カルシウムなどの希アルカリ性水溶液と接触せしめ、オーレオバシランを溶出し、オーレオバシラン溶液を採取する。

本溶液を、必要により濃縮、中和などした後、常法に従って、活性炭、イオン交換樹脂などにより脱色、脱塩精製し、濃縮、乾燥してオーレオバシランの白色粉末を得る。

また、オーレオバシラン水溶液を、メタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトンなどの有機沈澱剤で処理したり、クロマトグラフィーにかけたりして分画精製し、超遠心的および電気泳動的に均一な高純度オーレオバシラン画分を採取することは容易に実施でき、更に、これを乾燥し、粉末化することも容易である。

この際の乾燥方法としては、通風乾燥、熱風乾燥、噴霧乾燥、ドラム乾燥、凍結乾燥などの方法が適宜選択できる。

このようにして得られたオーレオバシランから、ポリオール型オーレオバシランを製造するには、オーレオバシラン1重量部（以下、本明細書では重量部を部と略称する。）に約0.01乃至0.5Mの過沃素酸若しくはその水溶性塩、例えば、メタ過沃素酸ナトリウム、メタ過沃素酸カリウムを含む水溶液約50乃至500部に溶解、または懸濁させ、通常pH3乃至8の範囲で反応させる。この操作は、通常、緩やかな条件、例えば、暗所で室温以下の温

度、望ましくは15°C以下で1乃至5日間行ない酸化反応を終了させればよい。このようにして得られる主として側鎖部分が酸化されたポリアルデヒド型オーレオバシランは、反応性に富んでおり、例えば、共有結合による固定化酵素の担体などとして有利に利用できる。

更に、還元するには、酸化反応液にエチレングリコールを添加するか、または透析処理するかなどの方法により、過剰の過沃素酸を消費、または除去した後、これに還元剤を加えて還元させる。

また、必要ならば、酸化反応液からポリアルデヒド型オーレオバシランを分離採取した後還元してもよい。

還元する方法は、オーレオバシランの酸化物が還元できればよく、例えば、ニッケル触媒による水素還元、水素化硼素ナトリウムによる還元などが適宜選択できる。このようにして還元した反応液は、常法に従って、ニッケル触媒を除去するか、または水素化硼素ナトリウムを有機酸を添加するなどして分解させた後、有機沈澱剤で水溶液からの沈澱を繰り返すか、また、必要ならば、活性炭、イオン交換樹脂などで脱色、脱塩して精製し、濃縮して、ポリオール型オーレオバシランのシラップ製品を、更に、乾燥、粉末化してポリオール型オーレオバシランの粉末製品を採取することも容易である。このポリオール型オーレオバシランは、オーレオバシランの主鎖に含まれる β -1,3結合しているグルコース残基には変化なく、側鎖のグルコース残基および主鎖に含まれる β -1,6結合しているグルコース残基が開環してポリオール型となったものである。

このようにして得られるオーレオバシランまたはポリオール型オーレオバシランは、化粧品、化学工業、食品工業、医薬品工業など各種用途に自由に利用できる。化粧品、化学工業用途としては、オーレオバシランが水可溶性の多糖であることから、これを含有せしめた組成物、成形物、例えば、顆粒、錠剤、シートなどが単独で、または他の材料と併用して自由に製造できる。また、ポリオール型オーレオバシランは、水易溶性であることから、例えば、糊剤、粘質剤、乳化剤、糸、フィルム、被覆膜などの製造原料として好適である。

食品工業用途としては、オーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランは、共に、無味、無毒で、消化乃至難消化性の食物繊維であり、コレステロール低下作用、重金属排泄促進作用などを有していることから健康増進食品などの配合剤として有利に利用できる。

また、医薬品用途としても自由に利用できるが、とりわけ、細胞性免疫賦活による顕著な抗腫瘍作用が見いだされたことより、抗腫瘍剤として好適である。

従って、オーレオバシラン、若しくはポリオール型オーレオバシランは、単独で、または、これらのいずれかに1種若しくは2種以上の薬剤、補助剤などを含有せしめることにより、例えば、注射薬、内服薬、外用薬などとして、オーレオバシラン、またはポリオール型オーレオ

バシラン感受性の悪性腫瘍、例えば、乳癌、肺癌、膀胱癌、子宮癌、大腸癌、胃癌、白血病、リンパ腫、皮膚癌などの治療に有利に用いることができる。

この治療に際して、他の抗腫瘍剤、例えば、シクロフォスファミド、塩酸ニムスチンなどのアルキル化剤、メソトレキサート、フルオロウラシル、テガフルなどの代謝拮抗剤、ブレオマイシン、マイトマイシンC、アクチノマイシンCなどの抗生物質、硫酸ビンクリスチン、硫酸ビンブラスチンなどのアルカロイド、プレドニゾン、メチルテストステロン、結合型エストロゲンなどのホルモン剤、インターフェロン、リンホトキシン、ツモアネクロシスファクター、IL-2などのリンホカインなどの一種または二種以上と併用して、その治療効果を更に高めることも有利に実施できる。

次に、実施例を使って、オーレオバシランおよびポリオ

*ール型オーレオバシランの抗腫瘍作用、毒性、用法および用量について説明する。

実験1.

4週令のICR-JCL雌マウスを各群10匹とし、Sarcoma180腹水ガン約 6×10^6 を右鼠蹊部に移植した。移植後1日目から、実施例1の方法で得たオーレオバシラン、または実施例3の方法で得たポリオール型オーレオバシランを、マウスkg当り、それぞれ1mg、5mg、10mgを含む生理食塩水として、1日1回、0.1mlずつ、連日10日間、腹腔内に注射した。対照は、オーレオバシラン、または、ポリオール型オーレオバシラン無含有の生理食塩水を、同様に投与した。移植後、35日目に解剖して腫瘍をとり出し、重量を測定し、オーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシラン投与群の腫瘍重量を、対照群のそれと比較して、腫瘍増殖抑制率(%)を求めた。

$$\text{腫瘍増殖抑制率(\%)} = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

但し、Aは対照群の10匹の平均腫瘍重量を示し、Bはオ
ーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシラン※20
※投与群のそれぞれの10匹ずつの平均腫瘍重量を示す。
結果は、第1表に示す。

第 1 表

		投与量 mg/kg/日×回	平均腫瘍重量 (g)	腫瘍抑制率 (%)	完全退縮数 (匹)	備考
		0×10×1	9.6±1.4	—	0	対照
オーレオバシラン	A	1×10×1	0.3	96.9	9	本発明
		5×10×1	0	100	10	本発明
		10×10×1	0	100	10	本発明
	B	1×10×1	0.4	95.8	9	本発明
		5×10×1	0	100	10	本発明
		10×10×1	0	100	10	本発明
ポリオール型オーレオバシラン	A	1×10×1	0	100	10	本発明
		5×10×1	0	100	10	本発明
		10×10×1	0	100	10	本発明
	B	1×10×1	0	100	10	本発明
		5×10×1	0	100	10	本発明
		10×10×1	0	100	10	本発明

第1表の結果から明らかなように、本発明のオーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランは、悪性腫瘍の増殖抑制にきわめて効果的である。

本実験は、他の温血動物、例えば、ヒト、ウシ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラットなどの哺乳類、ニワトリ、ハトなどの鳥類などにおいても、その効果を同様に発現するものと認められている実験である。

実験2.

体重約25gのBDF₁雄マウスを各群10匹とし、2mm角に切斷

したルイス(Lewis)肺癌を、背部皮下に移植した。移植後8日目から実施例1の方法で得られたオーレオバシラン、または実施例3の方法で得られたポリオール型オーレオバシランを、マウスkg当り、それぞれ0.02mg、0.1mg、1mgを含む生理食塩水として、1日2回、0.1mlずつ、連日10日間、静脈注射した。対照は、オーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシラン無含有の生理食塩水を、同様に投与した。移植後、23日目に解剖して腫瘍をとり出し、重量を測定して、実験1と同様に腫

瘍増殖抑制率(%)を求めた。
結果は、第2表に示す。

第 2 表

		投与量 mg/kg/日 ×回	平均腫瘍 重量 (g)	腫瘍 抑制率 (%)	備考
		0×10×2	8.4±0.5	—	対照
オーレ オバシ ラン	A	0.02×10×2	5.7±0.4	32.1	本発明
		0.1×10×2	5.0±0.6	40.5	本発明
		1×10×2	3.9±0.5	53.6	本発明
	B	0.02×10×2	5.9±0.5	29.8	本発明
		0.1×10×2	5.1±0.4	39.3	本発明
		1×10×2	4.2±0.6	50.0	本発明
ポリオ ール型 オーレ オバシ ラン	A	0.02×10×2	5.3±0.6	36.9	本発明
		0.1×10×2	4.0±0.7	52.4	本発明
		1×10×2	2.9±0.5	65.5	本発明
	B	0.02×10×2	5.4±0.6	35.7	本発明
		0.1×10×2	4.2±0.7	50.0	本発明
		1×10×2	3.0±0.6	64.3	本発明

第2表の結果から明らかなように、本発明のオーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランは、治療がきわめて困難とされている肺ガンなどの悪性腫瘍に対しても、顕著な増殖抑制効果が見られる。

実験3.

4週令マウスを用いて、実施例1の方法で得られたオーレオバシランおよび実施例3の方法で得られたポリオール型オーレオバシランを、常法に従って、経口、腹腔内、または静脈の投与経路で急性毒性テストを行なった。

その結果、両β-グルカンともに、きわめて低毒性の物質であって、投与可能な最大投与量においても、死亡例は認められなかった。

従って、正確な値とは言えないが、両β-グルカンともそのLD₅₀値は、

経口投与の場合 20g以上/kg

腹腔内投与の場合 5g以上/kg

静脈投与の場合 1.5g以上/kg

であった。

以上の実験からも明らかなように、本発明のオーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランは、その有効用量からも極めて安全であり、悪性腫瘍の治療に有利に用いることができる。その投与方法としては、悪性腫瘍を治療する方法であればよく、例えば、皮下、筋肉内、腹腔内、静脈などへの注射、経口投与、座剤として投与、外用剤として塗布、点滴などの投与が適宜選択で

きる。

本発明のオーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシランの成人1日当りの用量は、投与方法によっても変わるが、通常、0.1mg乃至500gであり、例えば、経口の場合10mg乃至500g、注射の場合0.1mg乃至100g程度が用いられる。

以下、本発明の実施例を述べる。

実施例1.オーレオバシラン

オーレオバシディウム ブルランスIFO4464を澱粉部分分解物(D.E.40)10%、K₂HPO₄0.2%、ペプトン0.2%、NaCl0.2%、MgSO₄・7H₂O0.04%、FeSO₄・7H₂O0.001%からなる培地201に無菌的に植菌し、27°Cで5日間通気攪拌培養を行なった。菌体はプレコートフィルターにて分別した。

母液は、常法に従って精製、濃縮、粉末化してブルラン粉末約1.4kgを採取した。

一方、分別された湿菌体は乾物として約200gであった。本菌体を、温水で洗浄した。この洗浄菌体を菌体破砕機(商品名Dino Mill)で破砕後、遠心分離して細胞壁を採取し、これをアセトンで脱脂し得られた細胞壁に0.5N水酸化ナトリウム4lを加え、窒素気流中で25°Cで4時間ゆっくり攪拌を続け、次いで遠心分離し、この上清を水道水で透析し、更に濃縮乾燥して約8gの粗オーレオバシランを採取した。この1gを0.01Mリン酸緩衝液(pH7.8)200mlに溶解し、DEAE-セルロースカラムにかけ、その非吸着画分を透析し、濃縮、凍結乾燥、粉末化して白色のオーレオバシランA粉末約400mgを得た。

本品をセファロースCL-6Bを用いるゲル濾過法によって分子量を求めたところ、100,000乃至200,000であった。また、本品を窒素気流下で1N水酸化ナトリウムで1.0%水溶液を調整し、比旋光度を測定したところ、▲[α]_D²⁵。▼+1°であった。更に、本品の赤外線吸収スペクトルを、KBr錠剤法で測定したところ、図面の結果を得た。

一方、DEAE-セルロース吸着画分は、0.1N水酸化ナトリウム水溶液で溶離し、前記の非吸着画分の場合と同様に精製し、粉末化して白色のオーレオバシランB粉末約500mgを得た。

本品の分子量、比旋光度、赤外線吸収スペクトルをオーレオバシランAの場合と同様に求めたところ、分子量は350,000乃至450,000であり、比旋光度は、▲[α]_D²⁵。▼-1°であった。また、赤外線吸収スペクトルは、図面の結果とほぼ同一のパターンを示した。

このようにして得られた各種オーレオバシランは、化粧品、化学工業、食品工業、医薬品工業など各種用途に有利に利用できる。

実施例2

シュクロース8w/v%、酵母エキス0.2w/v%、コーンスティープリカー0.3w/v%、NH₄NO₃0.1w/v%、K₂HPO₄0.1w/v%、MgSO₄・7H₂O0.05w/v%、KCl0.05w/v%、MnSO₄・4

H₂O 0.0001w/v%および水からなる液体培地20lを120°Cで20分間滅菌した後、冷却し、始発pHを7.0として、オーレオバシディウム・ブルランス IF06353を植菌し、30°Cで4日間通気攪拌培養した。この培養液から実施例1と同様に処理して、母液からブルラン粉末約0.7kgを採取し、菌体から粗オーレオバシラン約7gを採取した。この粗オーレオバシラン1gを0.01N水酸化ナトリウム水溶液500mlに溶解し、常法に従って、活性炭で脱色し、H型、OH型イオン交換樹脂で脱塩して精製し、更に濃縮、凍結乾燥し粉末化して白色の高純度オーレオバシラン粉末約800mgを得た。本品は、オーレオバシランAおよびBを含有しており、その比旋光度は $\Delta[\alpha]_D^{25}$ 0°であった。

本品は、実施例1と同様に各種用途に有利に利用できる。

実施例3.ポリオール型オーレオバシラン

実施例1の方法で得たオーレオバシランAまたはオーレオバシランBの10gを、メタ過沃素酸ナトリウム(NaIO₄) 6.6gを含む水溶液500mlに懸濁し、10°Cで7日間、暗室にて攪拌しつつ酸化反応させた。この反応液を水に対して透析し、透析内液に水素化硼素ナトリウム(NaBH₄) 1.5gを加え、室温で2日間還元反応を行なわせた後、酢酸を加えてpH6.0とし、過剰の水素化硼素ナトリウムを分解し、更に水に対して透析した。

この透析内液に対して、3倍容のメタノールを加え、遠心分離して沈澱物を採取し、この沈澱物を水に溶解し、再沈澱させた後、水に溶解し、凍結乾燥、粉末化して白色のポリオール型オーレオバシランA粉末またはポリオール型オーレオバシランB粉末の約7.5を得た。

本品は、原料のオーレオバシランよりも水に対する溶解性に優れており、化粧品、化学工業、食品工業、医薬品工業などの各種用途に有利に利用できる。

実施例4.フィルム

実施例3の方法で得たポリオール型オーレオバシランAの乾物に対して、グリセリンを10w/w%含有するポリオール型オーレオバシランAの10w/v%水溶液を調製し、これをガラス板上に流延して70°Cの熱風で乾燥し、透明で強靱なフィルムを得た。

本品は、透明で光沢であり、強靱である。また、酸素透過度においても、ガスバリアー性の大きいことにより、酸化されやすい物品を被覆、または密封することが容易であり、それら物品の貯蔵期間、有効期間を大幅に延長することができる。

実施例5.繊維

実施例3の方法で得たポリオール型オーレオバシランBの20w/v%を含む防糸原液を80°Cにして、直径0.3mm、長さ1mmの円筒状ノズルより、圧力を3kg/cm²かけて室温の空气中にストランドを押し出し、水分を蒸散乾燥させつつ巻取機にて巻き取った。

得られた繊維の太さは、約20ミクロンで、強靱であっ

た。この繊維は、燃ることも、編むことも、織ることもできる。しかも、親水性であって、無毒であり、皮膚への刺激がないという特徴を有している。例えば、脱脂綿、生理綿、ガーゼ、手術糸などとして、また悪性腫瘍治療用として、例えば、体内へ埋め込み成形物などとして有利に利用できる。また、他の繊維と混紡すれば、その防湿性、非帯電性、染色性を生かして、肌着、その他衣料としても使用することができる。

実施例6.被覆膜

10. 実施例2の方法で得た粗オーレオバシランの0.5w/v%水溶液を35°Cとし、これに産卵後、10時間以内の新鮮卵を30秒間浸漬し、次いで、30°Cの温風で1時間乾燥して、卵表面上に被覆膜を形成させた。この被覆膜を形成させた卵を、室温(15~25°C)で保存して、その可食期間を対照の無処理卵と比較した。その結果、被覆膜を形成させた卵の保存期間は、約5~10倍にも延長された。

実施例7.カップ

20. 実施例1の方法で得たオーレオバシランA粉末を、攪拌しつつ水を噴霧して含水率を約30w/v%とし、これを押し出し成形機にかけてストランドを調製し、これを裁断して直径25mm、長さ4mmのペレットを製造した。このペレットを射出成形機に供給し、樹脂温度120°Cにてカップ成形用金型内に射出注入して成形した。強靱、かつ半透明なカップが得られた。

実施例8.肥料杭

30. 配合肥料(N=14%、P₂O₅=8%、K₂O=12%)70部、実施例1の方法で得た粗オーレオバシラン10部、硫酸カルシウム15部、水5部とを充分混合した後、押出機(L/D=20、圧縮比=18、ダイスの口径=30mm)で、80°Cに加熱して肥料杭を製造した。

本品は、肥料用容器が不要で取扱い容易であり、全層施肥に適した強度を有し、さらに配合割合を変えることにより、肥料成分の溶出速度を調節できるものである。

実施例9.カプセル

40. 実施例3の方法で得たポリオール型オーレオバシランA 5w/v%およびゼラチン10w/v%を含有する水溶液を60°Cに加熱し、脱気した後、カプセル用金属棒を浸漬し、直ちに引き上げて40°Cの温風で徐々に乾燥した。弾性が強く、透明で光沢のある高品質の硬質カプセルが得られた。このカプセルは、径口薬、座薬などの容器として好都合である。

実施例10.接着剤

50. ジメチルスルホキシド30部、水25部、実施例2の方法で得た高純度オーレオバシラン2部、ブルラン8部及びジベンジリデンキシリット2部の混合物を温度90°Cにて1時間攪拌し、溶解せしめた後、これを直径14mm、高さ50mmの円筒状の繰り上げ、繰り下げ可能な機構を備えた口紅式容器に注入して、室温で放冷し、固形状接着剤を製造した。本接着剤をクラフト紙に塗りつけたところ、薄く均一に塗布することができ、初期接着力も充分であっ

た。

実施例11. 麺類

米粉70部、馬鈴薯澱粉20部、小麦粉10部、実施例1の方法で得たオーレオバシランA2部、10%食塩水約40部をよく混合した後、これを蒸し上げ、更によく練り上げ、次いで、麺帯生地を調製して一夜放置した。これを細断して麺線にし、沸騰水中で3分間ゆでて調理麺を得た。この麺は、こしの強い麺であった。

実施例12. 珍味

トリ肉のミンチ30部を砂糖2部、醤油2部、みりん6部と共にフライパンで煎りつけて調製したそばろに、実施例1の方法で得たオーレオバシランB粉末3部を加えて、よく混合した後、約150~170°Cで約50kg/cm²に加熱、加圧して結合成形し、約1cmの厚さのシート状成形物を得た。これを適当な大きさに細断することにより、珍味とした。ビールのつまみや、子供のおやつなどに好適である。

実施例13. 魚肉練製品

解凍したスケソウすり身4,000部に対し、マルトース80部、グルタミン酸ナトリウム80部、馬鈴薯澱粉200部、氷水300部、トリポリリン酸ナトリウム12部、食塩120部および、予め実施例3の方法で得たポリオール型オーレオバシランA10部とソルビトール1部とを溶解しておいた水溶液100部を播潰し、約120gずつを定形して板付した。

これらを、30分間で内部の品温が約80°Cになるように蒸し上げた。続いて、室温で放冷した後、4°Cで24時間放置して製品とした。

これらの製品は、いずれも足が強く、肌面が細やかで、艶やかな光沢を有しており、食感も良好であった。

実施例14. 揚げ物用衣

薄力粉100部に実施例の方法で得た高純度オーレオバシラン1部を加え、これに水300部を加えて攪拌混合して衣を得た。この衣でエビ、サツマイモなどの種を包んで揚げたところ、衣の口当りはよく、また種へのつきもよかった。

実施例15. アイスクリューム

40w/v%クリーム70部、全脂加糖練乳200部、全乳460部、脱脂粉乳20部、砂糖5部、マルトース5部及び実施例2の方法で得た高純度オーレオバシラン1.0%水溶液4部を加熱して混合し、70°Cで30分間加熱殺菌した後、ホモゲナイザーを通して3~4°Cに急冷し、一夜熟成の後、フリーザーに入れた。

なめらかな口当りのよいアイスクリュームが得られた。

実施例16. レモンゼリー

寒天3部と実施例3の方法で得られたポリオール型オーレオバシランB5部を水200部、砂糖50部を加えて溶解し、続いて65°Cまで冷却した。

これにレモン香料および着香料の少量を加えた炭酸水350部を混合して型に入れ、冷却して艶やかなレモンゼリ

ーを得た。本品は、食物繊維ポリオール型オーレオバシランを含有した健康増進食品である。

実施例17. ヨーグルト

脱脂粉乳175部、砂糖80部、マルトース50部、実施例1の方法で得たオーレオバシランA30部を水1,200部に加熱溶解し、ホモゲナイザーにかけた後、約85°Cで30分間加熱して殺菌し、次いで、40°Cに冷却した。これに市販されているヨーグルトの乳酸菌で調製したスターター30部を植菌し、37°Cで8時間培養してゲル状のヨーグルトを得た。

このヨーグルトは、なめらかで光沢もあり、口当りもよかった。本品は、オーレオバシランを含有し、コレステロール低下作用を有する健康食品である。

実施例18. 錠剤

実施例3のポリオール型オーレオバシランAの20w/v%水溶液100部に、マルトース140部、ビタミンA・パルミテート20部を加え、充分に攪拌混合した後、ガラス板上に流延し、風乾した。次いで、この乾燥物を粉末とした後、常法に従って打錠機で錠剤を製造した。打錠剤1g中には、ビタミンA・パルミテート10万IUを含有しており、30°Cで3ヶ月放置した後も、ほとんど減少は認められなかった。また、本品は経口用抗腫瘍剤として、例えば、胃癌、十二指腸癌、直腸癌などの悪性腫瘍の治療剤としても、有利に利用できる。

実施例19. 錠剤

アスピリン50部に実施例1の方法で得たオーレオバシランB14部、コーンスターチ4部を充分に混合した後、常法に従って打錠機により錠剤を製造した。

本品は吸湿性がなく、物理的強度も充分であり、しかも水中での崩壊はきわめて良好であった。

実施例20. 注射薬

実施例1の方法で得たオーレオバシランAを0.2w/v%水溶液とし、次いで、活性炭にて脱色し、H型、OH型イオン交換樹脂で脱塩精製し、減圧濃縮し、更に、メンブランフィルターにて無菌的に濾過した。得られた濾液を、1バイアル当りオーレオバシランAが200mgになるように、滅菌した20ml容ガラス容器に充填し、凍結乾燥し、密栓して注射用製剤とした。本品は生理食塩水などでオーレオバシランAを溶解、または懸濁して、皮下、または筋肉内などに注射し、例えば、乳癌、肺癌、肝癌、白血病などの悪性腫瘍の治療に有利に用いられる。

実施例21. 注射薬

実施例3の方法で得たポリオール型オーレオバシランBを約2w/v%水溶液とし、次いで、実施例20と同様に活性炭、イオン交換樹脂にて脱色、脱塩精製し、濃縮し、メンブランフィルターにて無菌的に濾過した。得られた濾液を、ポリオール型オーレオバシランB2w/v%の等張溶液とし、20ml容アンプルビンに充填し、滅菌して注射用製剤とした。

本品は、腹腔内、静脈などに注射し、例えば、乳癌、膀

膀胱癌、子宮癌、大腸癌、胃癌などの悪性腫瘍の治療に有利に用いられる。

実施例22.軟膏

実施例2の方法で得た高純度オーレオバシラン粉末を、少量の流動パラフィンを加えて研和した後、ワセリンを加え10mg/gの軟膏剤とした。

本品は、例えば、皮膚癌、乳癌、リンパ腫などの悪性腫瘍の治療に有利に用いられる。

(発明の効果)

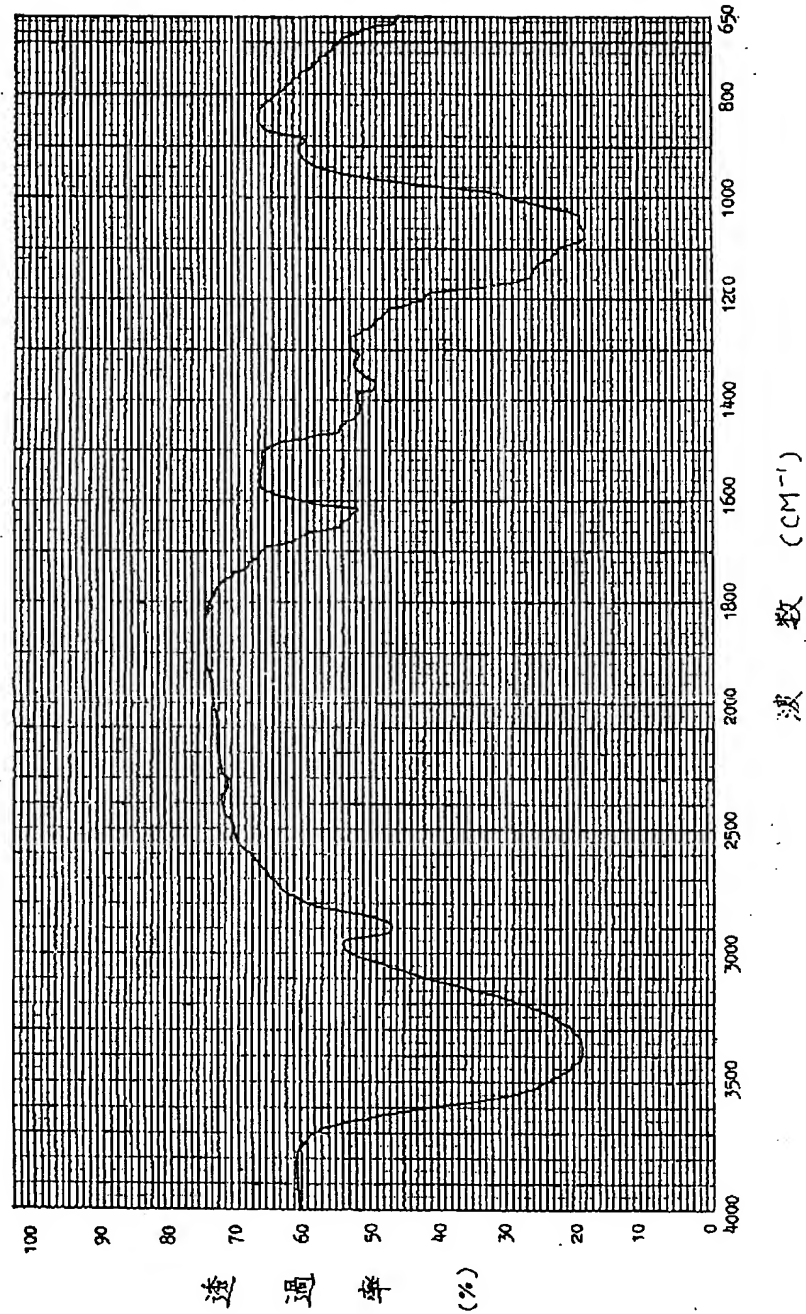
上記したことから明らかなように、本発明のβ-D-グルカン(オーレオバシラン)およびこれから誘導されるポリオール型オーレオバシランは、無味、無毒の不消化乃至難消化性の食物繊維であり、コレステロール低下作

用、重金属排泄作用などを有していることから、健康増進食品の配合剤として好適であり、また、強い抗腫瘍作用を有していることから、各種悪性腫瘍の治療剤などとして、更に、錠剤、フィルム、シートなど各種成形物、組成物の製造にも有利に利用できる。

オーレオバシランの大量製造方法としては、オーレオバシディウム属に属する微生物の培養物から分離採取すればよく、とりわけ、オーレオバシランとブルランとを共に産生させ、これらを分離し採取する方法は、工業的製造方法としてきわめて有利に実施できる方法である。

【図面の簡単な説明】

図面は、オーレオバシランの赤外線吸収スペクトルを示す図である。



フロントページの続き

(51)Int.Cl.³

A 61 K 47/36

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

D 7433-4C

H 7433-4C

(17)

特公平6-92441

C 1 2 P 19/04

A 7432-4B